

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **60208910 A**(43) Date of publication of application: **21.10.85**

(51) Int. Cl.

A61K 9/00**B01J 13/02**(21) Application number: **59063994**(22) Date of filing: **31.03.84**(71) Applicant: **GREEN CROSS CORP:THE**(72) Inventor: **FUKUSHIMA TSUNEKAZU
ENOMOTO HIROSHI
KAGITANI MASAO
YOKOYAMA KAZUMASA
NISHIDA MASAYUKI
SUYAMA TADAKAZU****(54) PREPARATION OF COMPOSITE OF HARDLY
WATER-SOLUBLE DRUG AND PHOSPHOLIPID****(57) Abstract:**

PURPOSE: To obtain the titled composite, by dissolving a hardly water-soluble drug and a phospholipid in an organic solvent, distilling off the solvent to form a thin film of phospholipid containing the drug, treating the film with ultrasonic wave, centrifuging the treated product, and recovering the bottom precipitate.

CONSTITUTION: A hardly water-soluble drug having a water-solubility of 20.1mg/ml (e.g. spadicomycin, anthramycin, fluorouracil, etc.) and a phospholipid (e.g. phosphatidylcholine, phosphatidylserine, soybean phospholipid, yolk phospholipid, etc.) are dissolved in an organic solvent such as chloroform. The amount of the hardly water-soluble drug is preferably 0.01W10pts.wt. per 1pt.wt. of the phospholipid. A phospholipid thin film containing the drug is formed by distilling off the solvent, the suspension of the thin film is treated with ultrasonic

wave and centrifuged, and the obtained bottom precipitate is recovered to obtain the objective composite of the hardly water-soluble drug and the phospholipid. The activity of the drug increases several times W several tens times by the solubilization effect, and a unusually effective drug preparation can be prepared.

COPYRIGHT: (C)1985,JPO&Japio

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑨ 公開特許公報(A)

昭60-208910

⑫ Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和60年(1985)10月21日

A 61 K 9/00
B 01 J 13/02

6742-4C
8317-4G

審査請求 未請求 発明の数 1 (全7頁)

⑭ 発明の名称 水懸溶性薬物・リン脂質複合体の製造方法

⑮ 特 願 昭59-63994

⑯ 出 願 昭59(1984)3月31日

⑰ 発 明 者	福 島	恒 和	神戸市垂水区塩屋台3丁目18番2号
⑰ 発 明 者	榎 本	浩 浩	大阪市港区築港3-3番1-541
⑰ 発 明 者	鎌 谷	昌 男	榎原市山之坊町427-22
⑰ 発 明 者	横 山	和 正	豊中市寺内2-7番2-201
⑰ 発 明 者	西 田	正 行	大阪府三島郡島本町育美3丁目2-6-304
⑰ 発 明 者	須 山	忠 和	京都府綴喜郡田辺町松井ヶ丘4丁目3番7号
⑰ 出 願 人	株式会社	ミドリ十字	大阪市東区今橋1丁目15番地の1
⑰ 代 理 人	弁理士	高 島 一	

明 細 書

1. 発明の名称

水懸溶性薬物・リン脂質複合体の製造方法

2. 特許請求の範囲

(1) 水懸溶性の薬物とリン脂質を有機溶媒に溶解後、溶媒を留去して薬物を含んだリン脂質薄膜を形成し、この薄膜の懸濁液をさらに超音波処理後、遠心分離して得られた最下層沈渣を回収することを特徴とする水懸溶性薬物・リン脂質複合体の製造方法。

(2) 薬物が水不溶性で、クロロホルム、アセトン、酢酸エチル、エーテル、ベンゼンなどの有機溶媒に対して0.1~100mg/ml程度の溶解度を持つ特許請求の範囲第(1)項記載の水懸溶性薬物・リン脂質複合体の製造方法。

3. 発明の詳細な説明

(利用分野)

本発明は、水懸溶性薬物・リン脂質複合体の製造方法に関する。

(従来技術)

一般に水にも有機溶媒にも溶けにくい難溶性薬物はその製剤化が困難であり、一般に界面活性剤による乳化、包接化、誘導体化による可溶化、リポソーム化あるいはマイクロカプセル化などの手段を通じて製剤化している。しかし、これらの手段をほとんどしても、依然として薬効を十分発揮する如き製剤化は困難であるのが実情である。

そこで本発明者らは、水懸溶性薬物の可溶化、製剤化について種々検討した結果、リポソーム製剤化技術に準じて調製した水懸溶性薬物含有リン脂質薄膜を水溶液で懸濁後、超音波処理し、さらに遠心分離を行うことにより回収される最下層沈渣が水懸溶性薬物の取り込みの豊富な成分であること、その成分は水懸溶性薬物・リン脂質複合体を形成しており、水可溶性であり、この複合体は医薬品として極めて有用であることを見出し、本発明を完成した。

(本発明の目的)

本発明の目的は、水懸溶性薬物の可溶化方法を提供することである。

本発明の他の目的は、水溶性性薬物の取り込み量豊富な水溶性性薬物・リン脂質複合体の製造方法を提供することである。

本発明の更に他の目的は、新規水溶性薬剤を提供することである。

(発明の図示)

本発明は、水溶性性の薬物とリン脂質を有機溶媒に溶解後、溶媒を留去して薬物を含んだリン脂質薄膜を形成し、この薄膜の懸濁液をさらに超音波処理後、遠心分離して得られた最下層沈澱を回収することを中心とする水溶性性薬物・リン脂質複合体の製造方法、水溶性性の薬物を上記水溶性性薬物・リン脂質複合体とすることによる水溶性性薬物の可溶化方法および上記水溶性性薬物・リン脂質複合体を含有してなる水溶性薬剤である。

本発明で用いられる水溶性性薬物は、水に対する溶解度が 0.1mg/ml 以下で薬理学的に活性を有するものである。当該薬物は、分子量1000以下の低分子化合物であることが好ましい。より好ましくは、クロロホルム、酢酸エチル、アセトン、エ

ーテル、ベンゼンなどの有機溶媒に対して、 $0.1 \sim 100\text{mg/ml}$ 程度の溶解性を有する化合物である。かかる薬物の具体例としては、例えばスバディコマイシン、アントラマイシン、フルオロウラシル、ダウノマイシン、アドリアマイシン等に代表される抗癌剤、フルルビプロフェン、アセメタシン等に代表される消炎鎮痛剤、あるいはプラスチックグランジン、リボキシゲナーゼ阻害剤などが挙げられる。

当該複合体を形成するためのリン脂質は、生理的に許容され、そして代謝されうる無毒のリン脂質であればいずれも本発明に用いられる。たとえば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルグリセリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリン、ジェチルホスフェート、リゾホスファチジルコリン（リゾレシチン）、ステアラルアミン、あるいはこれらの混合物である大豆リン脂質、卵黄リン脂質などが用いられる。好ましいリン脂質としては、

大豆あるいは卵黄のリン脂質が例示される。

これら両成分を用いて、本発明の複合体を調製する。まず、リン脂質および水溶性性薬物を有機溶媒、例えばクロロホルムなどに溶解させる。両者の割合は、リン脂質の1重量部に対して水溶性性薬物が $0.01 \sim 10$ 重量部であることが好ましい。当該薬物およびリン脂質を混和した溶液含有容器を、好ましくはロータリーエバポレータを用いて減圧して、溶媒を留去し、容器の内壁にリン脂質を薄く付着させて水溶性性薬物を含んだリン脂質の薄膜を形成させる。この場合、好ましくはリン脂質の安定化のために、抗酸化剤、例えば α -トコフェロールを、好適にはリン脂質に対する重量%が $0.0001 \sim 0.1\%$ (w/w) 程度になるように添加する。また、公知の安定化剤を添加することもちろん可能である。

形成された薄膜に、生理的に受け入れられる水溶液（例えば、 $\text{pH} 5.5 \sim 8$ 、好ましくは $\text{pH} 6 \sim 7$ に調整したもの。具体的には、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、リン酸緩衝液、生理食塩溶液など）

を、リン脂質1gに対して $10 \sim 500\text{ml}$ になるように添加して、直ちに攪拌あるいは混攪を行うことにより薄膜を破壊し、複合体からなる粒子を形成させる。具体的には、通常、丸底フラスコにガラスビーズ数個を入れ、手で激しく振りまぜる（室温下、 $3 \sim 20$ 分間）方法が取られる。こうして濃度 $0.5 \sim 100\text{mg}$ リン脂質/ ml の複合体懸濁液が調製される。

当該粒子は、次いで超音波処理を施し、粒子径を $0.2 \sim 2\mu$ 以下に調整する。この時、超音波による発熱（液温の上昇）を防ぐために、氷冷下で超音波処理を行う。また、好ましくは、真空のような不活性ガス雰囲気下で行う。

さらに遠心分離を温度 $5 \sim 20^\circ\text{C}$ で1万g以上、好ましくは $2 \sim 3$ 万g、 30 分 ~ 2 時間程度行う。

この結果、懸濁液に3層に分かれる。即ち、上層（Fr I と称する）は、リン脂質の色を示す上清であり、通常のリボソーム（Small unilamellar vesicle）層分に値する。中層（Fr II と称する）は、薬物とリン脂質の混合色を示す沈澱であり、

超音波処理で破壊されずに残った脂質粒子の層である。Pr IIはさらに超音波処理を行うことによりPr I及びPr IIIに移行する。最下層(Pr IIIと称する)の沈渣は、薬物に染じた色となる。この最下層沈渣Pr IIIを回収し、上述の生理的に受け入れられる水溶液、リン脂質を含む水溶液あるいは上清Pr Iを用いて遠心洗浄する。かくして、水溶性薬物・リン脂質複合体がペレット状、懸濁状として調製される。得られた複合体の物性は、実験例Iに示した。

〔使用方法〕

本発明で得られる複合体の調剤化は、医薬品において広く公知の方法に準ずればよい。また、液状調剤を凍結乾燥することにより乾懸調剤としても提供される。この場合、各々の薬物あるいはリン脂質に応じて、適宜公知の安定化剤を用いることはもちろん自由である。また、非イオン系界面活性剤を添加しておくことは乾懸調剤の可溶性を高めるのに有用である。かかる乾懸調剤は、生理的に許容される水溶液、例えば生理食塩水溶液ある

いは上述した上清Pr Iによって溶解または分散して用いられるのが一般的であるが、製剤上の常套手段によって錠剤化、カプセル化、腸溶剤化、懸濁剤化、顆粒化、粉末化、注射剤化、坐剤化などを行ってもよい。

〔効果〕

本発明により得られる複合体は、水溶性薬物自体に比べて水への溶解度が増し、可溶性に伴い数倍から数十倍の溶性の上昇が見られる。また、毒性も単独投与に比べて低く抑えられるため、投与量の増加に伴う効果の上昇が期待される。

また、注射剤化が可能になり、複合体の粒子径を0.2〜2 μ に調整することにより、静脈内投与が可能となって運動性あるいは局所親和性の向上が期待されるうえ、経口投与時の薬物による腸管部への副作用を抑え、同時に腸管吸収の増加による効果の上昇が期待される。

かくして提供される本発明からなる複合体は、水溶性薬物の従来にならぬ効果的な製剤化が可能なるものであり、医薬産業上また临床上においても

新たな発展を可能にするものである。

実験例I：複合体の物性

(i) 薬物の取り込み

遠心分離後の各層(Pr I〜III)におけるリン脂質中への薬物の取り込みの度合いを調べた。各層を分取し、トリトンX-100で処理して複合体を破壊し、リン酸緩衝液中に懸濁させ、遠心後の上清を回収し、上清中の薬物質を高速液体クロマトグラフィーにより測定して、取り込み率($w/w\%$ ($\text{薬物質}/\text{リン脂質}$))を算出した(第1表)。

(以下空白)

第1表

	取り込み率 ($w/w\%$)		
	Pr I	Pr II	Pr III
ダウノマイシン	100	210	458
スベディコマイシン*	50	1020	1800
アドリアマイシン	2.4	20.0	860
S-フルオロウラシル	10.2	40.5	1020
デキサメタゾン	105	120	330
フルビプロフェン	0.45	170	2070
アセメタシン	14	225	485
プロスタグランジンE ₁	0.8	120	900

*：株式会社メドリ十字商品名

Pr IIIが極めて高い取り込み率を示し、複合体成分として有用であることが判明した。

四粒子径

各層(Pr I〜III)の粒子の粒子径を遠心沈降法

(コールター・カウンター法)により調べた(第2表)。

第2表

	心粒子径(μ)		
	Fr I	Fr II	Fr III
ダウノマイシン	<0.35	0.85	0.45
スバディコマイシン	<0.35	1.20	0.48
アドリアマイシン	<0.35	1.08	0.45
5-フルオロウラシル	<0.35	0.65	0.45
デキサメタゾン	<0.35	0.88	0.50
フルビプロフェン	<0.35	0.70	0.45
アセメタシン	<0.35	0.90	0.48
プロスタグランジンE ₁	<0.35	2.00	0.55

④可溶性

薬物単独と本発明複合体との注射用蒸留水への溶解性を比較した(第3表)。

液温20℃

第3表

	溶解度(mg/ml)	
	単独	複合体
ダウノマイシン	20	108
スバディコマイシン	55	440
アドリアマイシン	7	92
5-フルオロウラシル	13	880
デキサメタゾン	0.05	3.0
フルビプロフェン	0.15	0.8
アセメタシン	0.40	8.5
プロスタグランジンE ₁	0.07	5.6

複合体形成により、可溶性の良好な向上が見られた。

④粒子径の安定性

実施例1の方法に準じて各薬物のリン脂質複合

体(Fr III)を製造し、これを注射用蒸留水に溶解して0.5% (w/v)水溶液を調製し、4℃で1ヶ月間保存し、粒子径を測定して粒子の安定性を検討した(第4表)。

第4表

	複合体の粒子径(μ)	
	調製直後	4℃、1ヶ月保存後
ダウノマイシン	0.45	0.44
スバディコマイシン	0.48	0.52
アドリアマイシン	0.45	0.45
5-フルオロウラシル	0.45	0.48
デキサメタゾン	0.50	0.60
フルビプロフェン	0.45	0.63
アセメタシン	0.48	0.42
プロスタグランジンE ₁	0.55	0.78

④複合体の安定性

本発明複合体から薬物が遊離することなく、安定であるかどうかを調べた。

各種リン脂質・複合体を生理食塩溶液で懸濁後、室温(13~26℃)にて1週間保存した場合(A)、およびヒト血漿中で37℃にて1時間インキュベートした場合(B)の各種リン脂質・複合体の安定性を調べた。即ち、上記(A)及び(B)の処理後、それぞれ実施例1の③「薬物の取り込み」に準じて、まず遠心分離により、沈渣と上清とに分け、更に沈渣を生理食塩溶液で3~4回遠心洗浄後、トリトンX-100処理を行い、沈渣中の薬物量を上清の形態にした上で、高速液体クロマトグラフィーにより測定して、薬物の残存量から複合体の安定性を求めた(第5表)。

(以下空白)

第5表

	薬物の残存率(%)	
	(A)	(B)
ダウノマイシン	98	88
スベディゴマイシン	101	97
アドリアマイシン	89	95
5-フルオロウラシル	103	101
デキサメサゾン	98	98
フルルビプロフェン	95	92
アセメタシン	95	78
プロスタグランジンE ₁	98	79

数値はいずれも開始前値に対するパーセントを
表わす。

実験例2

薬物単独と本発明複合体との ddY系マウス(雄)
に対する静脈内投与時および経口投与時の急性毒

性(LD₅₀)を比較した(第6表)。

第6表

	急性毒性(mg/kg)			
	静脈内投与		経口投与	
	単 独	複合体	単 独	複合体
ダウノマイシ ン	23.5	33.1	271.4	445.7
アドリアマイ シン	9.1	15.7	736.9	2104
5-フルオロ ウラシル	173.4	231.4	249.1	437.8
プロスタグラ ンE ₁	—	—	7566	9737

実験例3

薬物単独と本発明複合体との静脈内投与におけ
る薬理効果を比較した(第7表)。

①では、薬物としてスベディゴマイシンを用い、
L-1210 腹水型接種 BDF₁ マウス(雄)に対する
制癌効果を、②では、薬物としてプロスタグラン
ジンE₁を用い、正常雄犬(雄)に対する血圧降
下効果の出現率を調べた。

(以下省略)

第7表

	単 独		複 合 体	
	投与量 (mg/kg)	効 果 (%)	投与量 (mg/kg)	効 果 (%)
①	2.5	19	2.5	24
	5.0	25	5.0	31
	10.0	50	10.0	68
②	0.25	4.8	0.25	5.4
	0.5	7.7	0.5	8.3
	1.0	10.5	1.0	11.6

実験例4

薬物単独と本発明複合体との腫瘍親和性を比較
した(第8表)。

動物として、Walker carcino sarcoma固形型接
種ウィスター系ラット(雄)を用い、ラジオアイ

ソートでラベルした薬剤を 1.8×10^7 dpm/kg 膀胱内投与し、投与24時間後の膀胱への薬剤の貯留度を放射能を測定することにより求めた。

第8表

スバディコマイシン	膀胱重量g 当りdpm	
	単独投与	複合体投与
全 血	825	956
肝 臓	565	631
腎 臓	129	135
臓 腑	3800	6310

実施例5

薬剤単独と本発明複合体との経口投与時の吸収性について比較した(第9表)。

動物として、ウィスター系ラット(雄)を用い、ラジオアイソトープでラベルした薬剤を 1.8×10^7 dpm/kg 経口投与し、投与24時間後の全吸収量

を放射能を測定することにより求め、吸収率を算出した。

第9表

	吸収率(%) *	
	単 独	複 合 体
5-フルオロウラシル	53	66
スバディコマイシン	2.0	18

* : 投与量を100%とする。

実施例1

スバディコマイシン0.25g、精製卵黄リン脂質10gおよびα-トコフェロール10mgをクロロホルム100mlに溶解した後、ロータリーエバポレータを用いて減圧で加熱してクロロホルムを留去し、スバディコマイシンを含んだリン脂質の薄膜を形成させた。この薄膜に50mM塩化ナトリウム含有50mMリン緩衝液(pH7.0)100ml

を加し、ガラスビーズを入れ、直ちに室温で20分間激しく振盪させた後、ソニケータ(Branson Sonic Power 社製、Cell Disruptor 号350、出力60W)を用いて、氷冷しながら1時間超音波処理を行った。さらに室温で遠心分離(25000g、1時間)を行って得られた最下層沈渣を回収し、上述の緩衝液を用いて数回遠心洗浄して、除菌滅菌を行い、ペレット状のスバディコマイシン・リン脂質複合体を得た。

実施例2

実施例1で得られたペレット状製剤を凍結乾燥することにより、スバディコマイシン・リン脂質複合体の乾燥製剤を得た。

実施例3

スバディコマイシン0.25gの代わりに、ダウノマイシン0.5gを用いた以外は実施例1に準じて調製し、ダウノマイシン・リン脂質複合体(ペレット状)を得た。

実施例4

スバディコマイシン0.25gの代わりに、5-

フルオロウラシル0.4gを用いた以外は実施例1に準じて調製し、5-フルオロウラシル・リン脂質複合体(ペレット状)を得た。

実施例5

スバディコマイシン0.25gの代わりに、デキサメタゾン0.25gを用いた以外は実施例1に準じて調製し、デキサメタゾン・リン脂質複合体を得た。

実施例6

スバディコマイシン0.25gの代わりに、フルビプロフェン0.5gを用いた以外は実施例1及び2に準じて調製し、フルビプロフェン・リン脂質複合体(ペレット状)及びその乾燥製剤を得た。

実施例7

スバディコマイシン0.25g、精製卵黄リン脂質10gの代わりに、プロスタグランジンE₁ 0.25g、精製大豆リン脂質5gを用いた以外は実施例1及び2に準じて調製し、プロスタグランジンE₁・リン脂質複合体(ペレット状)及びその

乾燥製剤を得た。

特選昭60-208910(7)

手続補正書(自発)

特許出願人 株式会社 ミドリ十字
代理人 弁理士 高島 一

昭和59年7月16日

特許長官 殿

通

1. 事件の表示
昭和58年特許願第63994号
2. 発明の名称
水溶性炭素・リン酸複合体の製造方法
3. 補正をする者
事件との関係 特許出願人
氏名(名称) 株式会社 ミドリ十字
4. 代理人 0641
住 所 大阪市東区平野町4丁目53番地3
ニューライフ平野町 406号
電話(06) 327-1156
高島国際特許事務所
氏 名 弁理士(8079) 高島 一
5. 補正の対象
明細書の「発明の詳細な説明」の欄



6. 補正の内容

①明細書第2頁、第1行の「一般に」を削除する。

②同書第4頁、第1行の「アラ」を「プロ」に訂正する。

③同書第6頁、第16行の「懸濁液に」を「懸濁液は」に訂正する。

④同書第11頁、下から第2行の「高濃水」の次に「(濃度20%)」を加入する。

⑤同書第12頁、第1行の「濃度20%」を削除する。

⑥同書第17頁、第6行の「効果」の次に「(延命率)」を加入する。

⑦同書第17頁、第8行の「効果の出現率」を「効果(降下率)」に訂正する。

以上